

INTÉGRATION DE LA PHARMACOGÉNÉTIQUE DANS LA PRATIQUE MÉDICALE

V. DIDEBERG (1), V. BOURS (2)

RÉSUMÉ : Aujourd'hui encore, l'instauration d'un traitement médical soulève des interrogations quant à ses chances de succès ainsi qu'aux risques d'effets secondaires. De fait, les réponses thérapeutiques diffèrent entre individus et pour un même individu au cours du temps. L'âge, le sexe, d'autres traitements concomitants et la pathologie elle-même influent sur cette variabilité. Actuellement, l'implication de facteurs génétiques sur ces différences individuelles de réponse thérapeutique a été estimée être de 20 à 95%. Les récents progrès en biotechnologie ainsi qu'en génétique moléculaire et génomique permettent de mieux comprendre les mécanismes d'actions et voies de métabolisation des médicaments. La pharmacogénétique compilant des données phénotypiques et génétiques est un outil qui, intégré dans l'approche médicale actuelle, pourrait permettre un traitement et une posologie mieux adaptés à l'individu. Afin de permettre une meilleure approche de la pharmacogénétique et pharmacogénomique, il est essentiel de comprendre et de définir ces nouveaux concepts et, ensuite, d'en délimiter les applications cliniques présentes et futures.

MOTS-CLÉS : Pharmacogénétique - Pharmacogénomique - Single nucleotide polymorphisms

INTRODUCTION

Le concept de pharmacogénétique a émergé durant les années 50 à partir d'observations cliniques montrant des différences significatives de concentrations plasmatiques ou urinaires d'un médicament entre individus et la transmission de ces caractéristiques biochimiques entre générations. Les enzymes métabolisant les médicaments ont ensuite été découvertes ainsi que les gènes codants pour celles-ci. Enfin des variations de séquence au niveau de ces gènes ont été associées au trait hérité.

La majorité des variations génétiques associées à une différence de métabolismes médicamenteux ou d'efficacité thérapeutique sont des polymorphismes relativement courants dans la population générale. Ces polymorphismes, impliquant le changement d'une seule base au niveau de l'ADN (Single Nucleotide Polymorphisms ou SNPs), sont largement distribués au niveau du génome humain (1) (1/1000 bp, soit plus de 3.10^6 dans l'ensemble du génome) et se trouvent dans les régions codantes ou non-codantes des gènes. La densité et leur caractère bi-allélique font de ces SNPs des marqueurs génétiques de choix pour des études d'association à grande échelle cherchant à déterminer les variants génétiques associés à une réponse thé-

INTEGRATION OF PHARMACOGENETICS IN THE MEDICAL PRACTICE

SUMMARY : Today, the initiation of any medical treatment still raises questions about its efficacy and safety. Indeed, therapeutic responses vary over time and between individuals and are influenced by age, sex, other treatments and the pathology itself. Genetic factors are thought to be responsible for 20 to 95% of these individual variations. Recent advances in biotechnology, molecular genetics and genomics allow a better understanding of drug metabolism and action. Pharmacogenetics, compiling phenotypic and genotypic data, may lead to a more personalized treatment. To allow a better approach of pharmacogenetics and pharmacogenomics, we will define these two terms and describe their actual and future clinical application.

KEYWORDS : Pharmacogenetics - Pharmacogenomics - Single nucleotide polymorphisms

rapeutique. Par ces études, il est donc possible d'«associer» un variant génétique de type SNP avec une probabilité de réponse thérapeutique ou d'apparition d'effets secondaires. Une association mise en évidence entre une réponse clinique et un SNP ne permet cependant pas de déterminer si ce polymorphisme est en soi responsable du phénotype ou s'il est en déséquilibre de liaison avec la mutation causale située à proximité (Fig.1). De plus, la signification fonctionnelle des variants génétiques n'est pas toujours clairement établie. Enfin, étant donné l'implication de nombreuses protéines dans la métabolisation, le transport et le mécanisme d'action du médicament, plusieurs gènes peuvent jouer un rôle dans la réponse thérapeutique. Les effets cliniques de ces variants génétiques peuvent se contrebalancer ou s'accroître les uns les autres. L'interprétation des données issues d'études relatives à la pharmacogénétique est

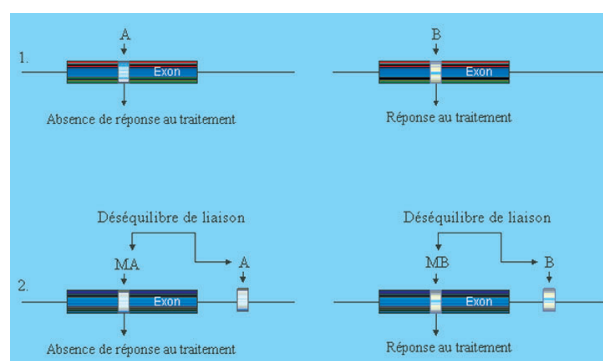


Figure 1 : Les deux allèles d'un SNP associé à la réponse au traitement sont représentés (A : variant allèle A, B : variant allèle B, MA: mutation causale allèle A, MB : mutation causale allèle B). L'allèle A est associé à une absence de réponse au traitement, l'allèle B à la réponse thérapeutique attendue.

1. Le SNP étudié est directement lié au phénotype
2. Le SNP étudié est en déséquilibre de liaison avec une mutation responsable du phénotype situé à proximité.

(1) Résident spécialiste, Service de Génétique Humaine, CHU Sart-Tilman, 4000 Liège
(2) Professeur Université de Liège, Chef de Service de Génétique Humaine, CHU Sart-Tilman, 4000 Liège.

dès lors complexe. Néanmoins, certains de ces SNPs, ou profils de SNPs, sont utilisés actuellement pour prédire une réponse clinique et un nombre croissant d'études démontrent l'association de SNPs avec des probabilités de réponse clinique à un agent thérapeutique.

DÉFINITIONS

Les termes de pharmacogénétique et pharmacogénomique sont largement employés sans qu'il y ait de définition formellement établie. Cependant un accord sur l'utilisation et la connotation de ces termes se profile (2).

PHARMACOGÉNÉTIQUE

Le suffixe «génétique» définit une particularité individuelle ayant été héritée. Le terme pharmacogénétique décrit donc une interaction entre une information au niveau de l'ADN d'une personne (ou groupe de personnes) et l'efficacité clinique ou un effet secondaire d'un médicament. Il s'agit donc d'étudier l'association entre un polymorphisme au niveau de l'ADN ou tout changement en découlant (tel qu'une différence d'expression d'ARNm, de fonction protéique..) et la différence phénotypique de réponse thérapeutique.

PHARMACOGÉNOMIQUE

La pharmacogénomique reprend quant à elle l'implication du génome dans son ensemble en étudiant l'effet d'une drogue sur le profil d'expression génique général au niveau tissulaire. Dans le cadre de la pharmacogénomique, on ne se focalise plus sur la différence entre individus mais plutôt sur la différence d'expression d'un panel de gènes selon le traitement.

Les deux approches sont donc différentes et l'ont peut décrire la pharmacogénétique comme l'outil permettant d'établir le traitement optimal pour chaque individu, tandis que la pharmacogénomique est plutôt impliquée dans la recherche du meilleur médicament selon les différents profils d'expression génique mis en évidence dans un groupe d'individus.

PHARMACOGÉNÉTIQUE - CLASSIFICATION

La pharmacogénétique peut être séparée en deux grands groupes :

LA PHARMACOGÉNÉTIQUE «CLASSIQUE»

La variation génétique n'est pas responsable de la pathologie ou n'y contribue pas et son étude n'est relevante que dans le cadre de la réponse au traitement instauré. Cette catégorie

inclut les effets de la pharmacocinétique ou de la pharmacodynamique d'une drogue sur la réponse au traitement (efficacité/ toxicité).

LA PHARMACOGÉNÉTIQUE IMPLIQUÉE DANS LES MÉCANISMES PATHOGÉNIQUES

Dans ce cas, la variation génétique est liée à la pathologie. La réponse au traitement est donc directement liée à l'hétérogénéité de la pathologie et aux différents mécanismes pathogéniques.

PHARMACOGÉNÉTIQUE CLASSIQUE :

1-Implications pharmacocinétiques

Les effets pharmacocinétiques incluent les fluctuations interindividuelles d'absorption, de distribution, de métabolisme ou d'excrétion du médicament, pouvant résulter en des concentrations inappropriées de la drogue ou de ses métabolites et ainsi en un manque de réponse ou en une toxicité médicamenteuse.

L'implication de la pharmacocinétique peut être décrite en considérant le rôle du gène CYP2B6 dans la réponse aux anti-rétroviraux ou celui du gène TPMT dans la toxicité de l'azathioprine.

- Les patients infectés par le virus HIV-1 répondent différemment aux traitements anti-rétroviraux. La concentration plasmatique de ces drogues ou de leurs métabolites, leur toxicité et le taux de récupération immune varient selon le patient. L'efavirenz (EFV), un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse, occupe une place essentielle dans le schéma thérapeutique recommandé chez les patients HIV-1 (3). Cependant, cette molécule induit des effets secondaires tels que des nausées, céphalées, vertiges, insomnies, et fatigue spécialement chez les patients ayant des concentrations plasmatiques élevées d'EFV. Ces effets secondaires sont les raisons principales de non compliance au traitement et de l'arrêt de celui-ci. L'EFV est métabolisé notamment par le cytochrome P2B6 (CYP2B6) au niveau hépatique. L'association de deux variants (G516T et A785G) au niveau du gène codant pour cette enzyme, est décrite comme le génotype CYP2B6 *6. Les patients homozygotes CYP2B6 *6/*6 présentent des taux plasmatiques d'EFV supérieurs aux taux retrouvés chez les patients hétérozygotes CYP2B6 *6 ou n'ayant pas d'allèle *6 (4), ce qui pourrait être expliqué par le faible taux d'expression protéique associé au génotype CYP2B6 *6/*6 (5). Ainsi, les concentrations plasmatiques d'EFV pourraient être prédites par le génotypage des patients avant l'instauration du traitement. La dose peut être diminuée chez ces patients homozygotes rédui-

sant ainsi le coût et les effets secondaires sans altérer l'efficacité thérapeutique. Un second gène, le gène MDR1 pourrait jouer un rôle dans la variabilité de réponse aux antirétroviraux (6). Ce gène code pour une glycoprotéine-P impliquée dans le transport de certaines drogues antirétrovirales. Un polymorphisme MDR1 (3435T/C) est associé au taux de récupération immunitaire (CD4+) après mise en place d'un traitement par efavirenz ou nelfinavir. Les patients ayant le génotype MDR1 3435 TT ont un meilleur taux de récupération lymphocytaire par rapport aux patients ayant les autres génotypes (C/T, C/C). Vu la complexité du suivi pharmacologique des patients HIV, le génotype CYP2D6, et potentiellement MDR1, est une information non négligeable chez les patients traités par efavirenz ou nelfinavir.

- Un autre gène étudié en pharmacogénétique est le TPMT. Ce gène code pour la thiopurine méthyl transférase (TPMT), enzyme métabolisant l'azathioprine (AZA) et la 6-mercaptopurine (6-MP). Cette étape est nécessaire à l'effet cytotoxique et immunosuppresseur de ces analogues de purines. Différentes mutations au niveau du gène TPMT conduisent à la production d'une enzyme ayant une activité de type intermédiaire ou nulle (7). Les patients présentant ce type d'activité enzymatique peuvent développer une leucopénie aiguë deux semaines après la mise en place d'un traitement par AZA ou 6-MP. Environ 10% de la population est hétérozygote pour une des mutations du gène TPMT et présente une activité de l'enzyme de type intermédiaire, alors que 1 personne sur 300 est porteuse de mutation à l'état homozygote rendant l'enzyme non fonctionnelle (8, 9). Le génotypage du gène TPMT permet donc d'identifier les individus à risque et ainsi de diminuer préventivement les doses de AZA/6-MP (10). Cette approche est utilisée par les cliniciens qui demandent cette analyse dans le but d'adapter le suivi de leurs patients et la posologie du traitement.

2- Implications pharmacodynamiques

Les effets pharmacodynamiques impliquent quant à eux des variations d'efficacité ou de toxicité entre individus malgré une concentration appropriée de la substance active au site d'intérêt. La variation au niveau du gène impliqué module l'effet thérapeutique par son rôle dans les mécanismes d'action de la drogue. Deux exemples pour illustrer cette notion sont la différence de réponse au β_2 agonistes dans l'asthme et le rôle du gène de l'ARN ribosomal 12S (12S rRNA) dans la surdité induite par les aminoglycosides.

Le traitement de l'asthme fait intervenir l'activation de récepteurs β_2 adrénergiques par des agonistes spécifiques résultant en une bronchodilatation. Plusieurs variants au niveau du gène ADRB2 codant pour le récepteur β_2 adrénergique sont associés à une différence de réponse aux β_2 agonistes (11, 12). La présence de deux polymorphismes sur un même allèle du gène ADRB2 aboutit à une diminution de la traduction de celui-ci et, ainsi, à une réduction du nombre de récepteurs β_2 adrénergiques cependant fonctionnels. Ceci entraîne une diminution de l'efficacité du traitement bronchodilatateur.

L'ototoxicité induite par les aminoglycosides est une toxicité irréversible majeure de ces antibiotiques. Cette sensibilité aux aminoglycosides est transmise par la mère, ce qui est caractéristique des pathologies génétiques dues à une atteinte du génome mitochondrial (13, 14). De plus, les fonctions mitochondriales sont essentielles au fonctionnement de l'oreille interne (15). Une mutation au niveau du génome mitochondrial a été décrite en 1993, prédisposant les patients porteurs de cette mutation à une ototoxicité (16, 17) induite par les aminoglycosides. Cette mutation (A1555G) rend la séquence du gène humain 12S rRNA exactement similaire à celle du gène bactérien 12S rRNA et l'ARN ribosomal 12S humain devient ainsi une cible pour l'aminoglycoside (18). 30% des patients présentent cette mutation et il est donc possible de prédire un risque élevé d'ototoxicité des aminoglycosides par le diagnostic moléculaire.

LA PHARMACOGÉNÉTIQUE IMPLIQUÉE DANS LES MÉCANISMES PATHOGÉNIQUES

Il est bien établi que les maladies complexes (cancers, maladies inflammatoires, maladies psychiatriques...) regroupent des sous-groupes pathogéniques. Un médicament ayant pour cible une molécule impliquée dans la pathologie pour un sous-groupe de patients et active chez celui-ci peut ne pas montrer la même efficacité chez des patients appartenant à un autre sous-groupe.

Prenons l'exemple du trastuzumab, un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre l'oncogène HER-2. Cette molécule est utilisée dans le traitement des cancers du sein métastatiques sur-exprimant HER suite à une amplification du gène et prolonge significativement l'espérance de vie de ces patientes. Cet anticorps est efficace dans cette sous-classe de cancer du sein, alors qu'il est inactif chez deux tiers des patients atteints d'un cancer du sein ne sur-exprimant pas cette protéine (19).

LA TOXICOGENÉTIQUE

La toxicogénétique est conceptuellement proche de la pharmacogénétique. Elle concerne l'étude des variants génétiques impliqués dans les différences individuelles de réponse aux agents environnementaux potentiellement toxiques. Un exemple peut illustrer cette définition.

Le dichlorométhane est un solvant utilisé dans de nombreuses applications industrielles; production de matières plastiques, industrie pharmacologique, aérosols, décapants, dégraissants... L'enzyme glutathion S transférase thêta 1 (GSTT1) convertit le dichlorométhane en un intermédiaire toxique, le formaldéhyde, à caractère cancérigène. Le gène codant pour cette enzyme est hautement polymorphe : selon l'ethnie, 10 à 60 % de la population présente une délétion des deux copies du gène (20). Ces patients qui n'auront donc plus d'enzyme GSTT1 fonctionnelle, présentent un risque moindre de développer un cancer suite à une exposition au dichlorométhane que ceux ayant les deux copies fonctionnelles du gène (21).

PERSPECTIVES

L'intégration de la pharmacogénétique à la pratique médicale est une nouvelle approche thérapeutique qui pourrait augmenter l'efficacité des médicaments et diminuer les risques de toxicité en ciblant, par l'étude de marqueurs génétiques, le traitement en fonction des caractéristiques propres des patients.

Il est cependant plus probable que l'apport de la pharmacogénétique se portera sur l'efficacité, plutôt que sur la toxicité thérapeutique. Plusieurs raisons peuvent être citées :

1- Les décisions cliniques et recommandations ne peuvent être modulées que sur des données fiables provenant d'une évaluation biostatistique correcte. Ceci nécessite de grandes cohortes qui sont plus facilement obtenues pour l'étude de l'efficacité d'un médicament que pour l'étude d'une toxicité : un médicament pouvant entraîner de graves effets secondaires ne sera commercialisé que si ceux-ci ne sont présents qu'au niveau d'un pourcentage très faible de patients.

2- Le risque encouru par un patient pour qui le schéma thérapeutique sera dépendant de son génotype est différent si l'on considère la probabilité de réponse au traitement ou le risque d'apparition d'effets secondaires. En effet, les marqueurs étudiés sont des marqueurs de susceptibilité permettant de classer les patients dans

certaines catégories pour lesquelles un type de réponse au traitement est prédit (répondeurs/non répondeurs, sensibilité à une toxicité/ insensibilité à une toxicité). Cependant, un patient catégorisé comme non répondeur en fonction de son génotype, peut répondre au traitement même si la probabilité que cela arrive est faible. Ainsi, dans le cadre d'une différence de réponse au traitement, le scénario le plus néfaste est l'exclusion d'un patient qui aurait répondu au médicament. Par contre, lorsque l'on étudie le risque de toxicité médicamenteuse, un patient ayant un génotype «non à risque» peut apparaître sensible à l'effet toxique après l'instauration du traitement. Le dommage au patient est bien entendu plus important dans ce cas. Le risque encouru pourrait ainsi limiter l'usage des données de pharmacogénétique, dans le cadre de prédiction d'une toxicité thérapeutique, aux médicaments vraiment indispensables au traitement de certaines pathologies.

3- L'implémentation de tests de pharmacogénétique permettant de stratifier la population selon une probabilité de réponse à un traitement sera sans doute plus aisé étant donné que ces tests pourraient être recommandés par les praticiens et remboursés plus facilement vu le plus grand nombre de patients pour qui ces mesures pourraient être appliquées.

ASPECTS ÉTHIQUES DE LA PHARMACOGÉNÉTIQUE

L'utilité de la pharmacogénétique/pharmacogénomique ouvre un débat éthique sur cette émergence de données génétiques et leur utilisation. Nous sommes habitués à la confidentialité des résultats de tests génétiques et à l'utilisation restreinte de ces données pour les maladies génétiques «classiques», mais qu'en sera-t-il des données de pharmacogénétique ou de toxicogénétique? Ce problème n'est pas propre à la pharmacogénétique, il doit être également pris en compte pour l'étude de prédisposition aux maladies multigéniques, plus communes, dont l'étude moléculaire apportera également son flot d'informations génétiques.

Certains points doivent être considérés dans les réflexions futures :

- Tout d'abord, contrairement aux données génotypiques relatives aux pathologies héréditaires «classiques» dont l'accès est relativement limité, la nature même des données génétiques impliquant une différence de réponse aux traitements nécessite une accessibilité à un nombre plus étendu de praticiens (22). A l'extrême, les patients recevant un traitement déterminé seront

directement perçus comme «porteurs d'un génotype particulier».

- Deuxièmement, lors d'une pathologie chronique, vu les coûts engendrés par la prise en charge des patients, un patient présentant un génotype de «non répondeur» devient plus «à risque» au vu des assurances-maladies, qu'un patient pouvant être atteint de la pathologie, mais répondant au traitement.

Le débat n'est donc pas tellement orienté sur la divulgation ou non des données génétiques, mais plutôt sur comment et dans quel but utiliser ces données ?

En résumé, la pharmacogénétique est une nouvelle approche médicale passionnante, mais complexe, qui permettra de mieux connaître les pathologies ainsi que les mécanismes d'action des médicaments et pourrait déboucher sur la mise en place de traitements mieux adaptés à chaque individu.

RÉFÉRENCES

- Brookes AJ.— The essence of SNPs. *Gene*, 1999, **234**, 177-86.
- Lindpaintner K.— Pharmacogenetics and future of medical practice. *J Clin Pharmacol*, 2002, **54**, 221-230.
- DHHS.— *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents*. 2004, octobre 29.
- Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N, et al.— Homozygous CYP2B6 *6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **9**, 1322-6.
- Lang T, Klein K, Fischer J, et al.— Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*, 2001, **11**, 399-415.
- Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, et al.— Swiss HIV Cohort Study. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet*, 2002, **5**, 30-6.
- Regueiro M, Mardini H.— Determination of thiopurine methyltransferase genotype or phenotype optimizes initial dosing of azathioprine for the treatment of Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol*, 2002, **35**, 240-4.
- Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, et al.— Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol*, 2001, **15**, 2293-301.
- Weinshilboum R.— Thiopurine pharmacogenetics: clinical and molecular studies of thiopurine methyltransferase. *Drug Metab Dispos*, 2001, **29**, 601-5.
- Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, et al.— Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2000, **118**, 705-13.
- Haseltine WA.— Not quite pharmacogenomics. *Nat-Biotechnol*, 1998, **16**, 1295.
- McGraw DW, Forbes SL, Kramer LA, Liggett SB.— Polymorphisms of the 5' leader cistron of the human beta2-adrenergic receptor regulate receptor expression. *J Clin Invest*, 1998, **1**, 1927-32.
- Higashi K.— Unique inheritance of streptomycin-induced deafness. *Clin Genet*, 1989, **35**, 433-6.
- Hornig H, Woolley P, Luhrmann R.— Decoding at the ribosomal A site: antibiotics, misreading and energy of aminoacyl-tRNA binding. *Biochimie*, 1987, **69**, 803-13.
- Lindsay JR, Hinojosa R.— Histopathologic features of the inner ear associated with Kearns-Sayre syndrome. *Arch Otolaryngol*, 1976, **102**, 747-52.
- Fischel-Ghodsian N.— Genetic factors in aminoglycoside toxicity. *Pharmacogenomics*, 2005, **6**, 27-36.
- Hutchin TP, Cortopassi GA.— Mitochondrial defect and hearing loss. *Cell Mol Life Sci*, 2000, **57**, 1927-37.
- Hutchin T, Cortopassi G.— Proposed molecular and cellular mechanism for aminoglycoside ototoxicity. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994, **38**, 2517-20.
- Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, et al.— Phase II study of weekly intravenous trastuzumab (Herceptin) in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Semin Oncol*, 1999, **26**, 78-83.
- Bruhn C, Brockmöller J, Kerb R, et al.— Concordance between enzyme activity and genotype of glutathione S-transferase theta (GSTT1). *Biochem Pharmacol*, 1998, **56**, 1189-93.
- El-Masri HA, Bell DA, Portier CJ.— Effects of glutathione transferase theta polymorphism on the risk estimates of dichloromethane to humans. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1999, **158**, 221-30.
- Roses AD.— Pharmacogenetics and future drug development and delivery. *Lancet*, 2000, **355**, 1358-61.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr. V. Dideberg, Génétique Moléculaire, Tour de pathologie +3 p20, CHU Sart-Tilman, 4000 Liège
E-mail : vinciane.dideberg@chu.ulg.ac.be